

EFEITO DO PROCESSAMENTO NO TEOR DE COMPOSTOS FENÓLICOS EM SUCO DE MAÇÃ

PROCESSING EFFECTS ON THE CONTENT OF PHENOL COMPOUNDS IN APPLE JUICE

**Alessandro Nogueira¹, Lúcia Dinnies Santos²,
Flávia Villas Boas Wiecheteck², Sylvain Guyot³, Gilvan Wosiacki⁴**

¹ Universidade Estadual de Ponta Grossa, Campus em Uvaranas, Mestrado de Alimentos, Programa Recém-Doutores do Cnpq.

² Departamento de Engenharia de Alimentos - Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica - PIBIC/Cnpq/UEPG.

³ Instituto Nacional de Pesquisa Agronômica (INRA), França.

⁴ Autor para contato: Universidade Estadual de Ponta Grossa - UEPG, Campus em Uvaranas, Departamento de Engenharia de Alimentos, Ponta Grossa, PR, Brasil; (42) 220-3269, e-mail: wosiacki@uol.com.br.

Recebido para publicação em 12/11/2003

Aceito para publicação em 17/12/2003

RESUMO

Os compostos fenólicos contribuem com o aroma, o sabor e a coloração de sucos e vinhos. Presentes na casca e na polpa de maçãs, sua composição é influenciada pela variedade, processamento e armazenamento. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito de tratamentos anteriores e posteriores à prensagem no teor de compostos fenólicos no suco de maçã. Os tratamentos de pré-prensagem consistiram de adição de antioxidante, de enzimas pectinolíticas, e tempos de maceração em triturados de frutas com casca e sem casca. Os tratamentos pós-prensagem incluíram despectinização, filtração com bentonite, com gelatina e com gelatina + desproteínização. Foram dosados os fenóis totais e expressos como catequina (ppm). A oxidação dos fenóis foi a principal causa da alteração de seus teores, diminuindo de 800 para 425 ppm na variedade Fuji. O tratamento enzimático com tempo de maceração de 8 horas aumentou o rendimento de suco em torno de 10 a 15%, e nas frutas com casca, na presença de antioxidante, os valores atingiram 1000 ppm de catequinas, uma vez que a testemunha foi de 340 ppm. Os sucos das frutas sem casca, na presença de antioxidante e maceração de 8 horas tiveram teores mais elevados de fenóis, entre 854 (presença da enzima) e 1027 ppm (ausência da enzima). Os efeitos da oxidação na ausência de antioxidante e sem casca foram mais importantes, chegando ao teor final de 333 ppm. Tratamentos com gelatina aumentaram valores de fenóis em até 50 ppm, devido à reação entre o reagente de Folin e a proteína da gelatina, necessitando de desproteínização prévia. Com este trabalho pode ser observado que sucos de variedades de maçãs comerciais

apresentaram baixos teores de fenóis em virtude da oxidação enzimática e de tratamentos de clarificação.

Palavras-chave: suco de maçã, compostos fenólicos

ABSTRACT

Phenolic compounds contribute with the flavour and coloration of juices and wines. They are present in apple peelings and pulp and their composition is influenced by variety, processing and storage. The objective of this work was to evaluate the effect of their content in apple juices as influenced by specific treatment before and after pressing crushed fruits. The treatments included addition of antioxidant, pectinolytic enzymes and different times of maceration in crushed apples with and without peel. The treatments after pressing were despectinization, filtration with bentonite, filtration with gelatin and filtration with gelatin followed by deproteinization. Total phenolic compounds were quantified and expressed as catechin, in ppm. Phenolic oxidation was the main cause of changes in their content, which decreased from 800 ppm to 425 ppm in the case of the Fuji variety. The enzymatic treatment and the maceration time of 8 hours improved the juice yield in around 10 to 15%, and apple juice treated with antioxidant showed the content of 1000 ppm (the control test was 340 ppm). Peeled apple juices treated with antioxidant showed the highest content, *circa* 854 ppm (in the presence of the enzyme) and 1027 ppm (in its absence). The effects of oxidation in the peeled fruits were more effective, decreasing contents to 333 ppm. The treatment with gelatin increased the phenolic compounds in 50 ppm, making a previous deproteinization necessary. It was possible to observe that apple juices obtained from commercial varieties show low contents of total phenol compounds due to enzymatic oxidation and clarifying treatments.

Key words: apple juice, phenolic compounds

1. Introdução

Em maçãs, os compostos fenólicos estão localizados nos vacúolos (97%), sendo que nas células da epiderme e sub-epiderme as suas concentrações são superiores às quantidades encontradas nos tecidos internos da fruta. Em diferentes cultivares essa relação, casca/polpa, de concentração de fenóis pode ser de 3 a 10 vezes superior (Nicolas *et al.*, 1994). Em produtos da maçã, como o suco e a sidra, os fenóis têm apresentado considerável interesse devido sua influência nas características sensoriais, como na cor, sabores amargos e adstringentes, na formação de certos aromas e na claridade das bebidas. Atualmente o interesse sobre os compostos fenólicos reside na sua capacidade antioxidante, que contribui para a proteção aos efeitos prejudiciais ocasionados pelo estresse

oxidativo sobre a saúde (Lee & Smith, 2000; Mangas *et al.*, 1999 ; Nogueira, 2003).

A composição de compostos fenólicos em sucos de maçãs e sidras depende da variedade da maçã, do seu grau de maturação, das condições culturais e do tipo de extração durante a operação de prensagem (Lea & Arnold, 1978). No processamento, a concentração de fenóis pode ser modificada pela reação de escurecimento enzimático devida à ação da enzima polifenoloxidase (PPO) e pela formação de precipitados (Lea & Timberlake, 1978; Cliff *et al.* 1991; Sataque & Wosiacki, 1987). A oxidação enzimática pode ser bloqueada pela utilização de aditivos antioxidantes como o dióxido de enxofre e o ácido ascórbico, que podem atuar na inibição da enzima, ou interagir com intermediários da oxidação enzimática ou mesmo como agentes redutores, reconvertendo as quinonas aos com-

postos fenólicos orginais (Shahidi & Nacz, 1995; Sayavedra-Soto & Montgomery, 1986; Nicolas *et al.*, 1994). Dessa forma, as maiores perdas de compostos fenólicos no processamento de maçãs ocorrem pela oxidação durante e após a operação de trituração, por uma incompleta extração dos tecidos da fruta e na clarificação do suco (Shahidi & Nacz, 1995).

A extração do suco de maçãs envolve as operações de trituração e prensagem das frutas. Para melhorar o rendimento em suco obtido na prensagem podem ser adicionadas ao triturado, pectinases e celulases (Shahidi & Nacz, 1995). A utilização de enzimas de liquefação proporcionam um aumento na extração de compostos fenólicos em aproximadamente duas vezes a mais no suco, uma vez que os polifenóis procianidina B2, catequinas e epicatequinas, quercetinas e floredzinas podem estar associados à parede celular (Will, *et al* 2000; Schols *et al* 1991; Cliff *et al* 1991).

Este trabalho teve como objetivos avaliar os efeitos de tratamentos antes e após a prensagem na extração e evolução dos compostos fenólicos durante o processamento do suco de maçã clarificado.

2. Material e Métodos

As amostras de maçãs utilizadas foram das variedades comerciais Fuji, Gala e Golden Delicious, coletadas ao acaso no comércio de Ponta Grossa - PR, e colhidas durante a safra de 2003. As maçãs foram processadas em bancada segundo Wosiacki *et al* (1989) (Figura 1). Dois experimentos sobre o efeito de diferentes tratamentos no teor de compostos fenólicos foram realizados, um antes e outro após a operação de prensagem.

Tratamentos antes da prensagem. Uma amostra de 20 Kg da variedade Fuji foi dividida e triturada a fim de aplicar diferentes tratamentos antes da prensagem, tais como presença ou ausência de casca, ação de antioxidante (solução de ácido ascórbico [342,5 mg/kg] + metabissulfito de potássio [250 mg/kg]), adição de enzimas pectinolíticas [3 mL/hL] (Batch 1201371 L, Pectinex 100L, Novozymes) e tempo de maceração [0, 4 e 8 h] a 25°C. Em seguida foi realizada a prensagem tendo sido obtido o suco bruto; todos os sucos foram despectinizados (3 mL/hL) com a mes-

ma pectinase, em banho-maria a 45°C durante 1 hora, resfriados e transferidos para recipientes plásticos e conservados em congelador (-18°C) para posteriores análises.

Tratamentos após a prensagem. Para esse experimento o mosto foi obtido segundo o esquema da Figura 1. Em seguida, diferentes operações de clarificação foram utilizadas em seqüência: suco puro [testemunha], trasfega após despectinização [3mL/hL de pectinases a 45°C durante 1 hora], filtração com bentonite [40g/hL] ativada com 24 horas de antecedência, filtração com gelatina [3g/hL] incolor, filtração com gelatina e desproteíntização realizada com uma solução de 100g/L de ácido tricloroacético (Nogueira, 2003).

Análises físico-químicas. As técnicas analíticas utilizadas para açúcares redutores, açúcares redutores totais, compostos fenólicos, acidez total e nitrogênio total foram as descritas por Tanner & Brunner (1985) e pelo IAL (1976), tendo sido realizadas em triplicatas. Na análise dos compostos fenólicos foram realizados ensaios em branco [testemunha] na presença de antioxidantes com as concentrações utilizadas nos tratamentos. Os resultados foram avaliados mediante a análise de variância (ANOVA) e diferenciação das médias pelo teste de Tukey em nível de 5%, a fim de verificar e identificar diferenças significativas entre os tratamentos realizados (Dutcoski, 1996).

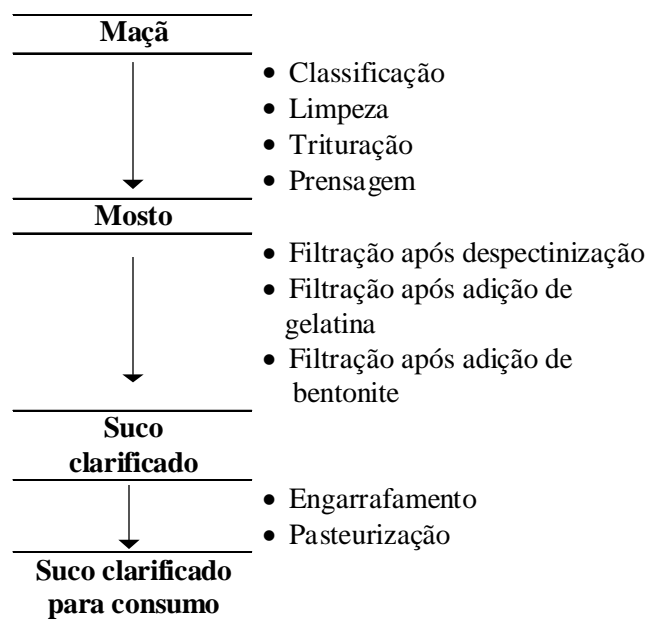


Figura 1 - Esquema de obtenção do suco de maçã clarificado.

3. Resultados e Discussão

3.1 Tratamentos antes da prensagem

O tratamento sem casca foi utilizado com objetivo de avaliar a liberação de fenóis da casca, uma vez que existem de 3 a 10 vezes mais fenóis na casca do que na polpa (Nicolas *et al.*, 1994).

A influência da ação de pectinase sobre os teores de compostos fenólicos foi observada durante 4 e 8 horas de maceração, utilizando-se maçãs com casca e descascadas, na ausência e presença de antioxidantes (Tabela 1). Os maiores teores foram encontrados nos tratamentos com cascas na presença e ausência da enzima após 4 horas de maceração. O tratamento com casca na presença de enzimas e tempo de maceração de 4 horas resultou em rendimento de 90% a mais de

fenóis do que a testemunha (340 ppm de catequina) sem nenhum tratamento. Na ausência da enzima esse rendimento foi de 33%, o que caracteriza intensa liberação de fenóis da casca (Tabela 1). Os tratamentos sem a casca não apresentaram rendimentos importantes na extração de fenóis.

Na Tabela 1 estão expressos os resultados do mesmo teste de avaliação da extração de fenóis mas em presença de antioxidante. Na ausência de pectinases, verificou-se que a maior extração ocorreu após 8 horas de maceração no ensaio realizado com maçãs sem casca (Figura 2B); no ensaio do efeito com maçãs com casca, os resultados foram semelhantes, com valores inferiores. Quando as pectinases estavam presentes, os resultados foram inversos, tendo sido encontrados os maiores teores de compostos fenólicos em testes feitos com maçãs com cascas.

Tabela 1 - Efeito das pectinase e do antioxidante durante o tratamento de maceração na extração de compostos fenólicos (ppm de catequina) no suco de maçãs, na presença e ausência de casca.

Tratamentos			Epiderme	
Pectinases	Antioxidante	Maceração	- Casca	+ Casca
- Pectinex 100L	- Antioxin	4 horas	333,16	453,33
		8 horas	366,15	398,42
+ Pectinex 100L	- Antioxin	4 horas	354,64	648,34
		8 horas	448,93	558,32
- Pectinex 100L	+ Antioxin	4 horas	781,15	711,93
		8 horas	1027,36	910,80
+ Pectinex 100L	+ Antioxin	4 horas	516,76	842,61
		8 horas	854,91	1008,33

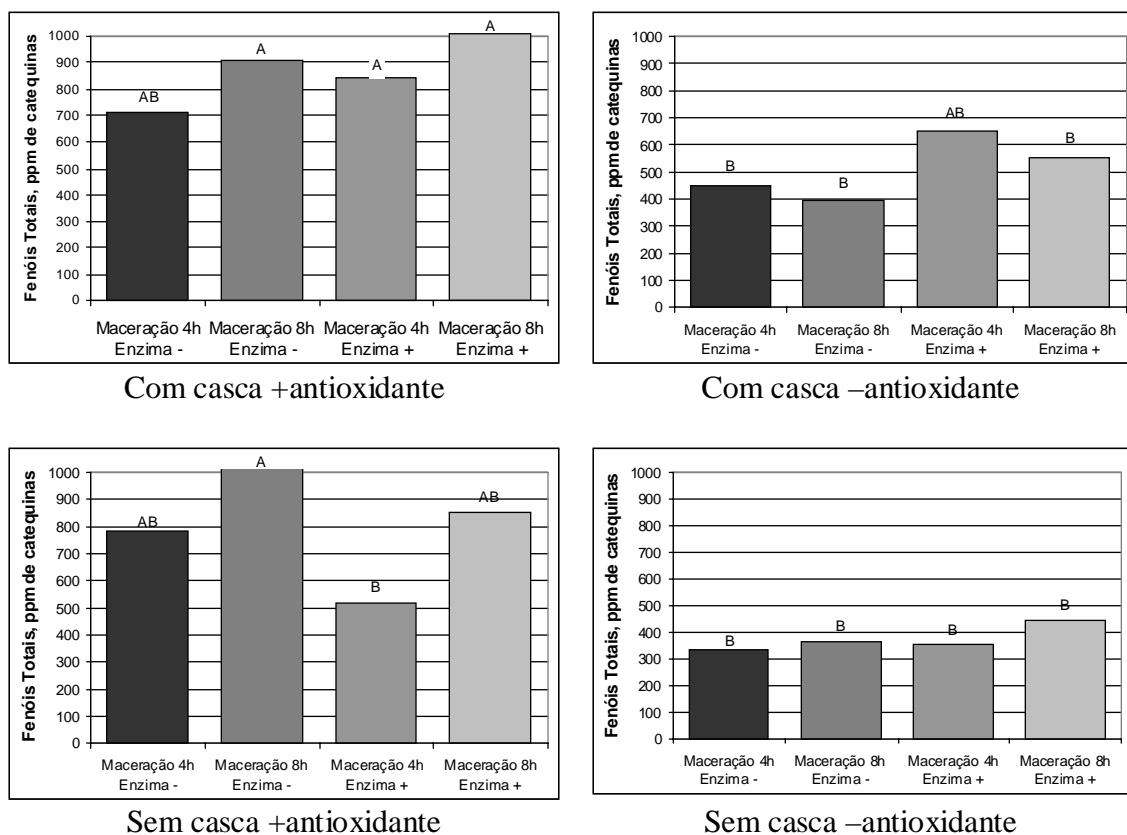
Nota: (+) presença; (-) ausência. * Mistura de ácido ascórbico e metabissulfito de potássio.



Figura 2 - Fotos do triturado de maçãs oxidado « A » e não oxidado « B » e seus respectivos sucos após a prensagem .

Na Figura 3 pode ser observado que a ausência de antioxidante no mosto resultou na diminuição dos compostos fenólicos de uma média de 867 para 514 ppm no experimento com casca, e de 794 para 375 ppm no tratamento sem casca, ou seja, a oxidação foi o principal agente de diminuição dos fenóis nativos. Esses valores se confirmam pelos resultados semelhan-

tes obtidos por Cliff (1991) e Lea & Timberlake (1978). Nota-se que o tratamento com casca e sem antioxidante, na presença de enzimas pectinolíticas, liberou no suco cerca de 200 ppm a mais de fenóis (em 4 horas de maceração), diminuindo as diferenças entre os produtos oxidados e não oxidados, estatisticamente significativas ao nível de 5%.



Nota: (+) presença, (-) ausência.

Figura 3 - Efeito de diferentes tratamentos antes da prensagem no teor de compostos fenólicos no mosto.

Na Tabela 2 podem ser observados os efeitos dos tratamentos combinados. Os teores de ácidos nos tratamentos com antioxidante são mais elevados, uma vez que o antioxidante utilizado contém ácido ascórbico na sua formulação, além da possível desesterificação da pectina que libera ácido galacturônico. Os tratamentos de maceração aumentaram de 1 a 2 g/100 mL os teores de açúcares redutores totais, atingindo o máximo de 16,75 g/100 mL, sem diferenças significativas entre eles.

O teor de nitrogênio apresentou grande variação (96 a 290 mg/L), sendo que na presença de

antioxidante na fruta com casca os valores de extração foram superiores, com ganhos de 60% em relação ao tratamento sem antioxidante e tempo de maceração de 4 horas. Na maceração de 8 horas os valores aumentaram em 54% na presença do antioxidante, o que caracteriza um efeito do tratamento no rendimento de nitrogênio total. Entretanto, o tratamento sem casca não apresentou diferenças marcantes no teor de nitrogênio com a utilização do antioxidante ou em relação ao tempo de maceração.

Na presença de antioxidante não há formação de *o*-quinonas, compostos primários da oxidação

enzimática, que podem formar outros através de reações de adições nucleofílicas, possíveis com grupos aminas de aminoácidos e peptídeos (Nicolas *et al.*, 1994). Como as amostras foram centrifugadas, esses compostos formados pela presença das *o*-quinonas foram retirados alterando o valor do nitrogênio total.

O uso de enzimas pectinolíticas na maceração melhora, pois, o rendimento de extração de suco (Tabela 2). No tratamento sem casca, o rendimento de suco foi baixo mesmo na presença de enzima na

maceração (32,50 a 55,17%). A casca funciona como um suporte que auxilia a extração do suco na prensagem da maçã, o que pode explicar os valores baixos. Na presença de casca, os rendimentos foram maiores na presença da enzima pectinolítica (75,00%) e maior tempo de maceração (8 horas), uma vez que a enzima degrada a pectina e facilita a extração do suco do citosol. Pode ser observado, que nos tratamentos sem a enzima quanto maior o tempo de maceração menor foi o rendimento em suco (45,83%).

Tabela 2 - Efeito dos tratamentos sobre diferentes marcadores da composição do mosto.

Tratamentos				Análises do mosto			
Epiderme	Antioxidante	Enzima	Maceração	Acidez g/100mL	ART g/100mL	Nitrogênio mg/L	Rendimento %
- Casca	- Antioxin	- Enz	4 horas	0,27	14,41	173,67	39,17
			8 horas	0,22	14,58	168,00	32,50
		+ Enz	4 horas	0,37	14,35	205,50	40,00
			8 horas	0,30	14,43	183,00	48,33
	+ Antioxin	- Enz	4 horas	0,33	14,30	183,33	44,17
			8 horas	0,35	16,75	195,00	43,17
		+ Enz	4 horas	0,41	14,10	96,00	54,17
			8 horas	0,47	15,55	150,00	55,17
+ Casca	- Antioxin	- Enz	0 horas**	0,28	14,02	159,50	60,00
			4 horas	0,26	15,87	136,00	50,00
		8 horas	0,22	14,97	143,50	45,83	
			0,36	15,93	134,33	61,83	
	+ Enz	8 horas	0,38	15,68	144,33	71,67	
			0,28	13,09	219,50	57,50	
		- Enz	8 horas	0,29	14,38	290,00	45,83
			+ Enz	4 horas	0,40	14,91	228,00
8 horas	0,41	14,06		235,00	75,00		

Nota: (+) presença; (-) ausência.* Mistura de ácido ascórbico e metabissulfito de potássio.**Valores utilizados como testemunha.

3.2 Tratamentos após a prensagem

Na Tabela 3 estão apresentados os conteúdos dos compostos fenólicos nos sucos obtidos a partir de amostras de maçãs das variedades comerciais Gala, Fuji e Golden Delicious. Os resultados demonstram que as perdas de fenóis entre o suco puro e o suco despectinizado enzimaticamente foram em sua maior parte atribuídas à oxidação do suco, apresentando diferença significativa ($p < 0,05$) para as três variedades. Após a oxidação enzimática as perdas nos processos

de clarificação foram pequenas, e somente o tratamento com gelatina e desproteinização apresentou diferença significativa ($p < 0,05$). O processo de despectinização do suco bruto reduziu em 37%, 56% e 48 % o teor de catequinas para as variedades Golden Delicious, Fuji e Gala, respectivamente.

A filtração do suco despectinizado após o tratamento com bentonite eliminou 2%, 3% e 2% de fenóis para as respectivas variedades. Segundo Lea & Timberlake (1978) a clarificação do suco com gelatina

apresenta uma significativa perda de procianidóis. No suco filtrado com bentonite foi adicionada gelatina e realizada uma nova filtração, e os valores de fenóis aumentaram aproximadamente 50 ppm, uma vez que a proteína da gelatina reagiu com o reagente de Folin alterando os resultados. Ao ser feita uma desproteínição os valores reais foram, portanto, de 344 ppm, 256 ppm e 253 ppm para as variedades Golden Delicious, Fuji e Gala respectivamente, o que mostra uma perda de 13%, 7% e 16% de fenóis após o trata-

mento com bentonite. O total de eliminação de compostos fenólicos nos processos de clarificação do suco de maçã foram de 53%, 66% e 60% para as variedades Golden Delicious, Fuji e Gala, respectivamente (Tabela 3). Entretanto, para este experimento não foram levadas em consideração as perdas de compostos fenólicos pela retenção em papel filtro utilizado nas operações de filtração, as quais podem estar incluídas nos resultados dos tratamentos.

Tabela 3 - Tratamentos de clarificação utilizados após a prensagem no teor de compostos fenólicos em três diferentes variedades.

Tratamentos de clarificação	Compostos fenólicos, ppm.		
	Golden	Fuji	Gala
Suco puro	731 ^A	758 ^A	631 ^A
Suco trasfegado após Despectinização	454 ^B	333 ^{BC}	325 ^{BC}
Suco filtrado com Bentonite	437 ^{BC}	310 ^{BC}	311 ^{BC}
Suco filtrado com Gelatina	494 ^B	357 ^B	361 ^B
Suco filtrado com Gelatina e Desproteínição	344 ^C	256 ^C	253 ^C

4. Conclusões

- O tempo de maceração de 4 horas em presença de casca resultou em maiores teores de fenóis e a presença de enzimas pectinolíticas aumentou ainda mais esses teores.
- Sem a epiderme, nem o tempo de maceração e nem as enzimas tiveram efeito, o que caracteriza a liberação de fenóis da casca.
- Na presença de antioxidante, ou seja, sem a oxidação enzimática, 8 horas de maceração apresentou melhor extração de compostos fenólicos, porém o tratamento enzimático na ausência de epiderme não apresentou interferência.
- A oxidação foi o principal agente de diminuição dos fenóis nativos.
- As enzimas pectinolíticas na maceração melhoram o rendimento de extração de suco e dobram os teores de ácidos nos tratamentos com antioxidante.

- A presença de antioxidante eleva os valores de nitrogênio total em até 60% nas frutas com casca.
- O total de perdas em compostos fenólicos nas operações de clarificação do suco de maçã foram de 53%, 66% e 60% para as variedades Golden Delicious, Fuji e Gala.

Agradecimentos

Os autores são profundamente agradecidos à Universidade Estadual de Ponta Grossa pela infraestrutura disponibilizada para realizar o presente trabalho e ao CNPq pela concessão de bolsas de Iniciação Científica, de Recém-doutor e de Produtividade em Pesquisa.

REFERÊNCIAS

- 1 CLIFF, M.; DEVER, M. C.; GAYTON, R. Juice extraction process and apple cultivar influences on juice properties. *Journal of Food Science*. v. 56, n. 6, p. 1614-1627, 1991.
- 2 DUTCOSKI, S. D. *Análise sensorial de alimentos*. Curitiba: Univ. Champagnat. 1996.

- 3 IAL. Métodos físicos e químicos para análise de alimentos. In:IAL. **Normas Analíticas**. 3. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz,1976. p.
- 4 LEA, A. G. H.; TIMBERLAKE, C. F. The phenolics of ciders: Effect of processing conditions. **Journal of the Science of Food and Agriculture**. v. 29, n. p. 484-492, 1978.
- 5 LEA, A. G.; ARNOLD, G. M. The phenolics of ciders: bitterness and astringency. **Journal of the Science of Food and Agriculture**. v. 29, n. p. 478-483, 1978.
- 6 LEE, C. Y.; SMITH, N. L. Apples: an important source of antioxidants in the american diet. **New York Fruit Quarterly**. v. 8, n. 2, p. 15-17, 2000.
- 7 MANGAS, J. J.; RODRIGUEZ, R.; SUAREZ, B.; PICINELLI, A., *et al.* Study of the phenolic profile of cider apple cultivar at maturity by multivariate techniques. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v. 47, n. 10, p. 4046-4052, 1999.
- 8 NICOLAS, J. J.; RICHARD-FORGET, F. C.; GOUPY, P. M.; AMIOT, M. J., *et al.* Enzymatic browning reactions in apple and apple products. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**. v. 34, n. 2, p. 109-157, 1994.
- 9 NOGUEIRA, A. **Tecnologia de processamento sidrícola. Efeitos do oxigênio e do nitrogênio na fermentação lenta da sidra**. 210 p. Doutorado em Processos Biotecnológicos Agroindustriais. Setor de Engenharia Química. Universidade Federal do Paraná. Curitiba. 2003.
- 10 SATAQUE, E. Y. ; WOSIACKI, G. Caracterização da polifenoloxidase de maçã (variedade Gala). **Arq. Biol. Tecnol.** Curitiba, v. 30, n. 2, p. 287-299, 1987.
- 11 SAYAVEDRA-SOTO, L. A.; MONTGOMERY, M. W. Inhibition of polyphenoloxidase by sulfite. **Journal of Food Science**. v. 51, n. 6, p. 1531-1536, 1986.
- 12 SHAHIDI, F.; NACZK, M. **Food Phenolics - Sources, Chemistry, Effect, Applications**. Pennsylvania: Technomic. 1995. p. 321.
- 13 SCHOLS, H. A.; INTVELD, P. H.; VANDEELEN, W.; VORAGEN, A. G. J. The Effect of the Manufacturing Method on the Characteristics of Apple Juice. **Zeitschrift für Lebensmittel - Untersuchung und Forschung**. v. 192, n. 2, p. 142-148, 1991.
- 14 TANNER, H., BRUNNER, H.R. **Getränke Analytik - Untersuchungsmethode für die Labor- und Betriebspraxis**. Wädenswill: Verlag Helles. 1985. p. 206.
- 15 WILL, F.; BAUCKHAGE, K.; DIETRICH, H. Apple pomace liquefaction with pectinases and cellulases : analytical data of the corresponding juices. **European Food Research and Technology**. v. 211, n. 4, p. 291-297, 2000.
- 16 WOSIACKI, G.; NAMIUCHI, N. N. Stability of clarified apple juice. part 1 - processing of apple juice. **Arq. Biol. Tecnol.** v. 32, n. 4, p. 775-786, 1989.